

# **Microanatomía del aparato bucal y de la cavidad oral de la larva de *Bufo fernandezae* Gallardo, 1957 (Anura, Bufonidae), con comentarios acerca de la coloración in vivo y la anatomía externa**

Dinorah D. ECHEVERRÍA

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales,  
Departamento de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Vertebrados, 1428 Buenos Aires, Argentina

**Observations of the buccal apparatus and oral cavity of tadpoles of *Bufo fernandezae* were made with scanning electron and dissecting microscopes. The jaw sheaths have well developed serrations, and the short, widely spaced denticles have 4-6 cusps. Denticles in the medial parts of rows are larger than those in more lateral areas. The buccal floor arena has three, simple, tall papillae in a single row on each lateral border, the interior of the arena has low papillae and pustules, and the buccal pockets are transverse. There are 4 lingual papillae in an anterior row on the tongue anlage. The buccal roof arena has 3 marginal papillae on each side, the interior of the arena has pustules, and the choanae are oblique. The lateral and median ridges are well developed. External morphological features of the larva of *Bufo fernandezae* are included.**

## INTRODUCCIÓN

La larva de *Bufo fernandezae* ha sido descrita por FERNANDEZ (1927) y GALLARDO (1957, 1974), hallándose coincidencias y discrepancias entre estos autores en cuanto a la anatomía externa y la coloración in vivo. LANGONE (1994) basó su descripción en una recopilación de los datos generados por FERNANDEZ (1927) y KEHR & WILLIAMS (1990), resaltando ciertos aspectos de la anatomía general externa de la larva que no coinciden completamente con GALLARDO (1987). DU PREEZ (1992) asignó importancia taxonómica a la morfología ultraestructural de los dientes labiales en el género *Bufo*. Halló diferencias morfológicas entre los keratodontos de *Bufo poweri*, *Bufo gutturalis* y *Bufo rangeri*. En cuanto a las características microanatómicas del aparato bucal y de la cavidad oral, existen escasas referencias entre los bufónidos y no se han registrado descripciones en *Bufo fernandezae*. VIERTEL (1982) describió los cambios morfogenéticos que experimenta la cavidad bucal en anuros de Europa como *Bufo bufo* y *Bufo calumita*. INGER (1985) observó, con microscopio electrónico de barrido, la

cavidad bucal de varios bufónidos de regiones boscosas de Borneo pudiéndose apreciar características en común con los bufónidos europeos.

El propósito de este trabajo es describir la morfología de los dientes labiales, del pico córneo y de la cavidad oral de la larva de *Bufo fernandezae* y poner énfasis en aclarar o modificar afirmaciones que involucren características externas controvertidas.

## MATERIAL Y METODOS

Durante los meses de octubre y noviembre de 1989 y 1991 se capturaron larvas de *Bufo fernandezae*, provenientes de las localidades de Del Viso (colección Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, FCEN 6, 10 ejemplares) y Pilar (colección de larvas particular del autor, DDE 96.51, 10 ejemplares) provincia de Buenos Aires. Los renacuajos fueron hallados en cuerpos de agua semipermanentes. Se fijaron in toto en formol 10 %. Los estadios larvales fueron asignados según la nomenclatura propuesta por GOSNER (1960).

Las observaciones del aparato bucal y de la cavidad oral fueron efectuadas con microscopio electrónico de barrido (MEB) y estereoscópico. Para facilitar el estudio con MEB se separó la región del disco oral del resto del cuerpo. Para efectuar el examen de la cavidad oral se procedió a separar las regiones del piso y del techo de la boca según la técnica de WASSERSUG (1976). Se aplicaron las técnicas de microscopía electrónica según FIORITO DE LOPEZ & ECHEVERRÍA (1984). La metalización se realizó con oro. Con el fin de facilitar la observación con microscopio estereoscópico se resaltaron las estructuras de la cavidad bucal vertiendo en ella 2 a 3 gotas de hematoxilina de Carazzi.

La descripción del aparato bucal y de los dientes se basó en la nomenclatura utilizada por ALTIG (1970) y DEUNFF & BEAUMONT (1959). La cavidad oral se describió según la nomenclatura de VIERTEL (1982). Sobre el visor del microscopio electrónico de barrido se midieron 10 dientes de cada tipo (labial y del pico córneo). Se tomó las modas del largo total de la espátula (LT) y el ancho máximo de la espátula (A). Se incluye una modificación a la descripción del renacuajo avalada por CEI (1980).

## RESULTADOS

### LARVA (fig. 1-2)

La coloración general del cuerpo es negra tanto dorsal como ventral; la región dorsal y lateral de la musculatura de la cola es predominantemente negra; sobre el borde dorsal de la musculatura de la cola se hallan manchas semicirculares que, a simple vista, parecen amarillentas o blancas otorgándole a la cola una apariencia listada, pero cuando se las observa con microscopio estereoscópico presentan un color anaranjado. La región ventral de la musculatura es amarilenta o blanca y lisa. La aleta caudal es transparente cuya parte dorsal presenta escasas y pequeñas manchas alargadas de color ocre. La región ventral del cuerpo

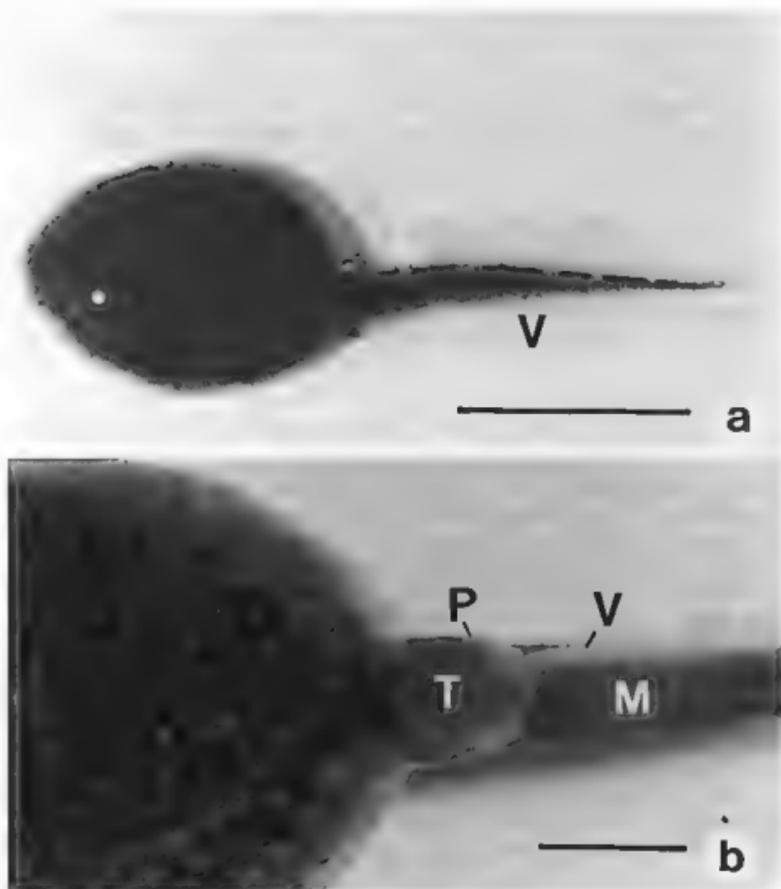


Fig. 1. - Larva de *Bufo fernandezae* en estadio 34. (a) Vista dorsal; escala: 6 mm. (b) Detalle en vista ventral y posterior del cuerpo; escala: 1 mm M, musculatura caudal; P, miembro posterior; T, tubo cloacal; V, aleta ventral

presenta cromatóforos anaranjados. Desde el estadio 39 en adelante aparece en el dorso una línea de posición vertebral de color blanco amarillento que, según los ejemplares, puede extenderse desde la parte posterior de la cabeza hasta la base de la aleta dorsal o mostrarse más reducida. El tubo cloacal muestra una abertura oval dirigida hacia la derecha. La pared izquierda está sostenida en parte por la aleta ventral, con el margen izquierdo ventral incluido en la aleta y continuo con ella. La pared lateral derecha del tubo cloacal sobresale de la aleta ventral (fig. 1b, 2). La aleta caudal presenta el extremo redondeado.

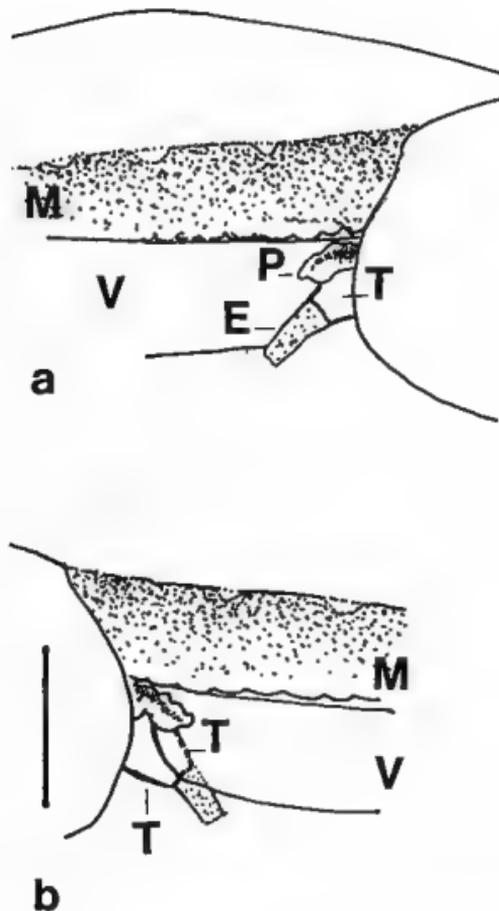


Fig 2 - Interpretación gráfica de una vista (a) lateral derecha y (b) lateral izquierda del tubo cloacal (T) de *Bufo fernandezae* en estadio 34; escala: 2 mm. E, excremento; M, musculatura caudal; P, miembro posterior; V, aleta ventral.

#### APARATO BUCAL (fig. 3-4)

Las márgenes laterales del disco oral presentan una hendidura angular. El ángulo oral es pronunciado. El borde papilar tiene una amplia brecha dorsal y otra ventral. Se observa una hilera continua de papilas marginales en la región lateral del disco abarcando las regiones de los ángulos oral, supraangular e infraangular. Las papilas presentan forma cónica con su extremo liso y romo (fig. 3a).

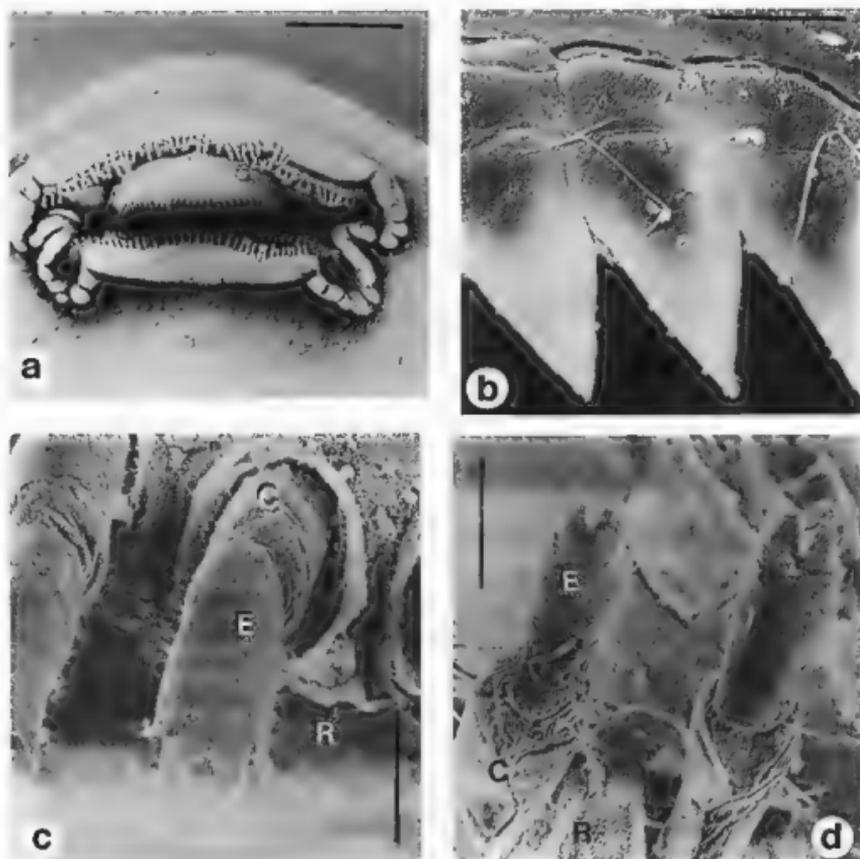


Fig. 3. Larva de *Bufo fernandezae* en estadio 31. (a) Vista general del aparato bucal en reposo; escala: 200  $\mu$ . (b) Dientes del pico córneo superior; 3000  $\times$ ; escala: 10  $\mu$ . (c) Dientes labiales en A-1, 3000  $\times$ , escala: 10  $\mu$ . (d) Dientes labiales en P-1; 3000  $\times$ ; escala: 10  $\mu$ . C, cono de la raíz; E, espátula; R, pliegue labial.

El pico córneo está bien desarrollado y queratinizado, con aspecto aserrado y pigmentación negra. Los dientes del pico córneo están dispuestos en empalizada, con el extremo libre agudo y las paredes laterales contiguas en contacto (fig. 3b). Las modas de las medidas son  $LT = 17 \mu$  y  $A = 9 \mu$ . Los pliegues labiales se disponen en cuatro hileras: dos anteriores y dos posteriores sobrepasando los límites de los extremos del pico córneo. La fórmula dentaria (sensu ALTIG, 1970) es 2(2)/2 en todos los ejemplares. La hilera A-1 se extiende desde un extremo al otro de las márgenes laterales recorriendo el borde superior del disco. La A-2

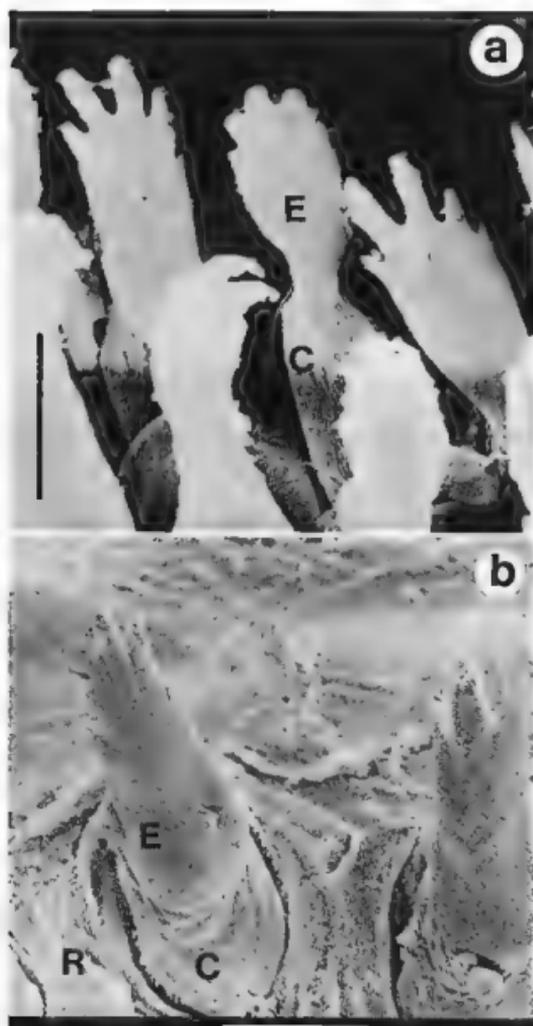


Fig. 4. - Larva de *Bufo fernandezae* en estadio 31. (a) Dientes en P-1 y P-2, desgastados: aspecto modificado de la espátula y del cono de la raíz, 3000  $\times$ ; escala: 10  $\mu$ . (b) Dientes en P-1 con varias cúspides en la espátula; 2200  $\times$ ; escala: 10  $\mu$ . C, cono de la raíz, E, espátula; R, pliegue labial.

presenta dos tramos separados por una brecha dorsal mediana. Las hileras P-1 y P-2 son enteras, con extensión desigual. P-2 es más corta que P-1 y se dispone en el borde ventral del disco.

Los dientes labiales, cuando emergen, presentan una espátula alargada, más larga que ancha, con denticulos en número de cuatro a seis. Cuando la espátula presenta cuatro denticulos, la distribución de los mismos es la siguiente: dos denticulos con longitud equivalente, de posición medial, y dos denticulos pequeños de posición lateral. El cuello está poco marcado. El cono de la raíz o base del diente, generalmente no alcanza el largo de la espátula (fig. 3c). Las modas de las medidas son  $LT = 22 \mu$  y  $A = 9 \mu$ . Recorriendo las hileras de dientes se pueden hallar dos camadas unidas; la más distal puede mantener el número de denticulos pero con modificaciones en la morfología dentaria. Se acentúa el cuello y las cúspides de los denticulos se hacen romas (fig. 3d, 4a). En las hileras posteriores se hallan espátulas con 5 y 6 denticulos (fig. 4b).

#### CAVIDAD ORAL: PISO (fig. 5a)

En el interior del pico córneo inferior se observan pústulas infrarostrales (IR). El piso de la boca está flanqueado por su parte anterior por pequeñas papilas infralabiales (PI). Sobre el esbozo lingual (L) se pueden hallar 4 papilas linguales (PL) simples, altas y cónicas, dispuestas en hilera en un plano transversal a la cavidad oral.

La superficie del piso de la cavidad oral (BFA) está limitada por 3 papilas periféricas (P) altas, ubicadas en los laterales. Entre ellas y en la región posterior de la BFA se encuentran papilas bajas y pústulas. Las hendiduras bucales (H) son alargadas, elípticas y están orientadas en sentido transversal al eje cefalo-caudal. La escotadura mediana (E) está poco marcada. El velo ventral (V) presenta proyecciones marginales espaciadas y fosetas glandulares (fig. 6).

#### CAVIDAD ORAL: TECHO (fig. 5b)

El area prenarial es lisa, no presenta papilación. Las coanas (C) son elípticas y están dispuestas oblicuas, con el extremo anterior dirigido hacia el interior de la cavidad oral. Las válvulas nasales están poco marcadas. Se halla un par de papilas posnasales (PN) cónicas, anteriores al pliegue lateral. El pliegue lateral (LP) está desarrollado, y cada proyección del mismo presenta el borde dorsal liso, y el borde ventral irregular. El pliegue mediano (M), tiene forma de proyección ventral semicircular cuyo borde libre presenta saliencias escasas. La superficie del techo de la cavidad oral (BRA) está limitada en sus lados por 3 papilas marginales (P), simples y cónicas. El centro de la superficie que delimitan éstas se halla cubierto por pústulas. La región glandular (G) se dispone en forma de V en una banda posterior con fosetas secretoras. El velo dorsal (V) presenta escasas proyecciones marginales en la región mediana y posterior.

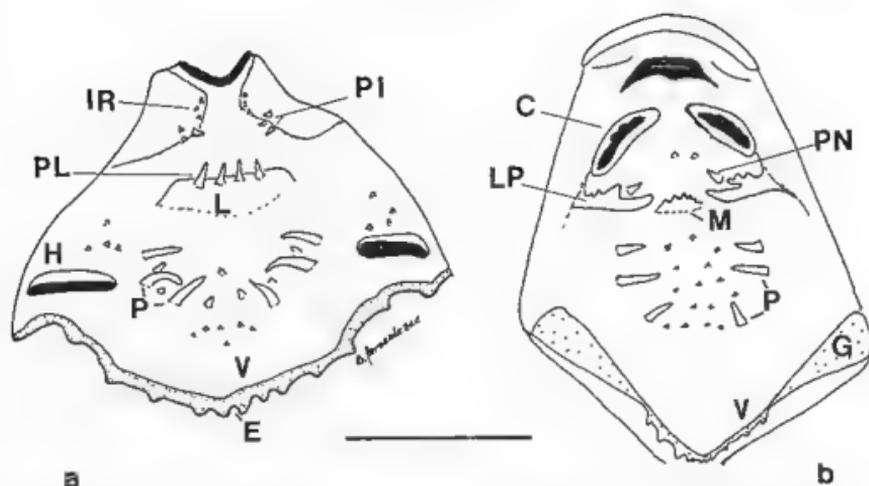


Fig. 5. Cavidad oral de una larva de *Bufo fernandezae* en estadio 31: (a) piso; (b) techo. Escala: 1 mm. C, coana; E, escotadura mediana; G, región glandular; H, hendidura bucal; IR, pústulas infrarostales; L, esbozo lingual; LP, pliegue lateral; M, pliegue mediano; P, papilas periféricas; PI, papila infralabial; PL, papilas linguales; PN, papila postnasal; V, velo

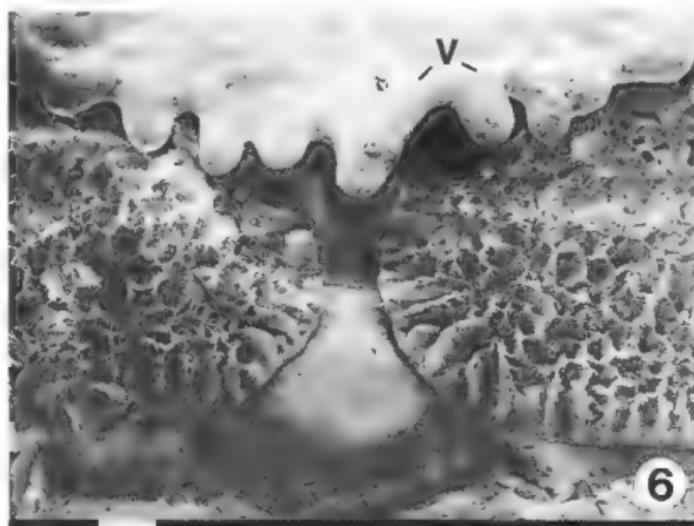


Fig. 6. - Superficie del piso posterior de la cavidad oral; escala: 100  $\mu$ . V, velo con proyecciones marginales.

## DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados de este estudio es preciso resaltar aspectos de la coloración y anatomía. La pigmentación in vivo del cuerpo y de la musculatura caudal de *Bufo fernandezae*, durante la prometamorfosis y premetamorfosis, es básicamente de color negro oscuro. Aún cuando pudiera haber variaciones de coloración individuales o en la distribución de los cromatóforos, el pigmento es negro, nunca marrón o parduzco como lo expresan FERNANDEZ (1927) y GALLARDO (1987). Más ajustada a la realidad está la descripción del color de los renacuajos que GALLARDO (1974: 196-197) esbozó, "negros con puntos dorados y con manchas claras y negras en la aleta caudal". Entre los estadios 31 y 35, la larva de *B. fernandezae* se distingue por su color negro intenso y presenta una característica en la cola que la identifica. Esta tiene apariencia barreada, debido a las manchas que forman parte del borde dorsal de la musculatura de la misma, descritas en este trabajo. Las características aludidas y el escaso tamaño que alcanzan los renacuajos son elementos muy útiles para el reconocimiento de la larva de *B. fernandezae* en el cuerpo de agua. En cuanto a la anatomía externa, surge de este trabajo que la posición de la abertura del tubo cloacal es dextral. Este se origina en la línea media posterior externa del cuerpo y, en su recorrido, se tuerce hacia la derecha, manteniéndose relacionado con la aleta ventral, desde su origen hasta el borde distal de la aleta: por lo tanto podría considerarse dextral y marginal. La aleta ventral contiene a la pared izquierda del tubo cloacal en toda su extensión.

La distribución, el número de las hileras de dientes labiales y la morfología de los dientes labiales de *B. fernandezae* son elementos que distinguen a la larva de *B. fernandezae* del resto de los bufónidos de la Argentina hasta ahora estudiados. En *B. fernandezae* se hallan diferencias marcadas con otras especies del género *Bufo* en cuanto a: (1) la fórmula dentaria; (2) la morfología de los dientes labiales, el número de denticulos que presenta la espátula; y, (3) la densidad relativa de los dientes labiales por hilera. La fórmula dentaria de *B. fernandezae* consta de 4 hileras configuradas en 2(2)/2. Esto la distingue de los otros bufónidos de la Argentina, cuya cantidad de hileras de dientes labiales es 5, ubicadas dos anteriores y tres posteriores, que determinan tres configuraciones 2(2)/3, 2(2)/3(1) y 2/3. La primera y la segunda fórmulas se hallan con más frecuencia en el género *Bufo* (ALTIG & JOHNSTON, 1986; GALLARDO, 1987; McDIARMID & ALTIG, 1989). En la mayoría de las especies de este género estudiadas con microscopio electrónico de barrido (INGER, 1989; DU PREEZ, 1992), los denticulos de la espátula se disponen en los bordes distal y laterales. En cambio, en *B. fernandezae* es posible observar a los dientes, cuando recién emergen, con cuatro a seis denticulos en el borde distal de la espátula. En los bufónidos de la fauna argentina, todos los denticulos presentan un tamaño relativo equivalente, pero en *B. fernandezae* existe una tendencia en las hileras anteriores a presentar 4 denticulos con diferente tamaño relativo, siendo los dos mediales los más desarrollados y los que soportarían el máximo de la función dentaria. En las hileras posteriores el patrón de 4 denticulos en la espátula no se manifiesta en todos los dientes. Las características aquí mencionadas podrían sumarse a aquéllas con relevancia suficiente para la identificación de la larva y, en el marco de la búsqueda de una descripción más acabada de la especie, ser consideradas junto a otros elementos con importancia taxonómica.

VIETEL (1982) e INGER (1985) hallaron características comunes en la cavidad bucal en *Bufo bufo*, *Bufo calamita* y *Bufo asper* como la presencia de 4 papilas linguales no unidas en la

base y de coanas oblicuas y abiertas en V posteriormente. En *Bufo fernandezae* se halló el mismo número de papilas labiales e igual disposición en las coanas que en los bufónidos aludidos. WASSERUG & HEYER (1988) manifestaron que la morfología de la cavidad bucal de las larvas de anuros provee información acerca de las adaptaciones a diferentes habitats y a nivel taxonómico. ALTIG & JOHNSTON (1989) plantearon una asociación entre las estructuras bucales sensu lato y el medio en que se desarrollan las larvas. La mayoría de las especies mencionadas, incluyendo a *Bufo fernandezae*, frecuentan ambientes lénticos y bentónicos, y las características halladas en esta especie estarían corroborando el tipo eco-morfológico léntico-bentónico que ALTIG & JOHNSTON (1989) describen para larvas exotróficas.

### RESUMEN

Las observaciones del aparato bucal y de la cavidad oral, con microscopios electrónico de barrido y estereoscópico, de la larva de *Bufo fernandezae*, revelaron las siguientes características: el pico córneo está bien desarrollado, presenta dientes en empalizada con una sola cúspide; los dientes labiales son cortos, con 4 a 6 denticulos; una amplia separación existe entre los dientes labiales en cada hilera; la arena del piso de la boca tiene 4 papilas simples en cada borde lateral, además de pústulas y papilas bajas en el interior del arena; los bolsillos bucales son transversales; 4 papilas linguales están presentes en una hilera anterior; el arena del techo de la boca tiene 3 papilas marginales en cada lado, y pústulas en el interior, las coanas se ubican de manera oblicua; los pliegues mediano y lateral están bien desarrollados. Se incluyen caracteres larvales externos de *B. fernandezae*.

### LITERATURA CITADA

- ALTIG, R., 1970 - A key to the tadpoles of the continental United States and Canada. *Herpetologica*, **26**: 108-207.
- ALTIG, R. & JOHNSTON, G. F., 1986 - Major characteristics of free-living anuran tadpoles. *Smithsonian herp. Inf. Serv.*, **67**: 1-75.
- 1989 - Guilds of anuran larvae. relationships among developmental modes, morphologies and habits. *Herp. Mon.*, **3**: 81-109
- CEL, J. M., 1980 - Amphibians of Argentina *Mont. zool. ital.*, (n.s.), **Mon.**, **2**: 1-XII + 1-609.
- DEUNFF, J. & BEAUMONT, A., 1959. - Histogénese des dents et du bec corné chez les larves de *Discoglossus pictus* Oth. *C. r. Soc. Biol.*, **153**: 1162-1164
- DU PREEZ, L. H., 1992 - Can the keratodont ultrastructure of larval anurans be used as a taxonomic character? *Electr. micr. Soc. S. Africa*, **22**: 111-112.
- FERNANDEZ, K., 1927. - Sobre la biología y reproducción de batracios argentinos. Segunda parte. *Bol. Acad. nac. Ci. Córdoba*, **29**: 271-320
- FIORITO DE LOPEZ, L. E. & ECHEVERRÍA, D. D., 1984. - Morfogenesis de los dientes larvales y pico córneo de *Bufo arenarum* (Anura, Bufonidae). *Rev. Mus. arg. Ci. nat. Bernardino Rivadavia, Zool.*, **13** (60): 573-578.
- GALLARDO, J. M., 1957. - Las subespecies argentinas de *Bufo granulatus* Spix. *Rev. Mus. arg. Ci. nat. Bernardino Rivadavia, Zool.*, **3** (6): 337-374.
- 1974. - *Anfibios de los alrededores de Buenos Aires*. Buenos Aires, Eudeba: 1-231
- 1987. - *Anfibios argentinos. Guía para su identificación*. Buenos Aires, Editorial Biblioteca Mosaico: 1-98.

- GOSNER, K. L., 1960. – A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, **16**: 183-190
- INGER, R. F., 1985. – Tadpoles of the forested regions of Borneo. *Fieldiana, Zool.*, (n.s.), **26**: 1-89.
- 1989. Four new species of frogs from Borneo. *Malayan Nat J.*, **42**: 229-243
- KEHR, A. & WILLIAMS, J. D., 1990. Larvas de anuros de la República Argentina. *Cuad. Herp. AHA, Mon.*, **2**: 1-44
- LANGONE, A. J., 1994. – *Ranas y sapos del Uruguay Reconocimiento y aspectos biológicos*. Uruguay, Intendencia Municipal de Montevideo, Museo Dámaso A. Larrañaga, Serie de Divulgación, **5**: 1-123
- MCDIARMID, R. W & ALTIG, A., 1989. Description of a bufonid and two hylid tadpoles from western Ecuador. *Alytes*, **8** (2): 51-60.
- VERTEL, B., 1982. – The oral cavities of central European anuran larvae (Amphibia): morphology, ontogenesis and generic diagnosis. *Amphibia-Reptilia*, **4**: 327-360.
- WASSERSUG, R. J., 1976. – Oral morphology of anuran larvae: terminology and general description. *Occ. Pap. Mus. nat. Hist. Univ. Kansas*, **48**: 1-23
- WASSERSUG, R. J. & HEYER, W. R., 1988. – A survey of internal oral features of leptodactyloid larvae (Amphibia: Anura). *Smithsonian Contr. Zool.*, **457**: 1-99.

Corresponding editor: Ronald G. ALTIG.